

Pengaruh Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Proliferasi Lapisan Endometrium Mencit (*Mus musculus*)

(EFFECT OF SOYBEAN EXTRACTS (*Glycine max*) ON PROLIFERATION ENDOMETRIAL LAYER IN MICE (*Mus musculus*))

Muhammad Soleh Salahuddin^{1*}, Erma Safitri², Maya Nurwartanti Yunita³, Suherni Susilowati², Iwan Sahrial Hamid⁴, Aditya Yudhana⁵

¹Bachelor of Veterinary Medicine,

²Department of Veterinary Reproduction,

³Department of Veterinary Pathology,

⁴Department of Basic Veterinary Science,

⁵Department of Veterinary Parasitology,

Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

Telp. (031)5993016, Fax. (031)5993015

*Corresponding author: muh.soleh.salahuddin-2014@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak kedelai untuk meningkatkan proliferasi lapisan endometrium dalam proses perkembangan organ uterus pada mencit (*Mus musculus*) betina. Kelompok kontrol (K) tidak diberi perlakuan. Kelompok P1 diberi ekstrak kedelai dengan dosis 12,5mg/kgBB. Kelompok P2 diberi ekstrak kedelai dengan dosis 25mg/kgBB. Kelompok P3 diberi ekstrak kedelai dengan dosis 37,5mg/kgBB. Kelompok P4 diberi ekstrak kedelai dengan dosis 50mg/kgBB. Perlakuan dilakukan setiap hari sekali selama empat belas hari. Hasil uji One Way Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Ketebalan endometrium kelompok P2, P3, dan P4 berbeda secara nyata ($p < 0,05$), dengan kelompok kontrol (K), dan kelompok kontrol (K) tidak berbeda nyata dengan kelompok P1 ($p > 0,05$), serta kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok P2 ($p > 0,05$). Kandungan senyawa fitoestrogen yaitu isoflavon berupa daidzein dan genistein bekerjasama dalam mengoptimalkan proliferasi lapisan endometrium pada uterus mencit (*Mus musculus*) betina. Daidzein bekerja sebagai senyawa estrogenik untuk berikatan dengan reseptor estrogen pada uterus dan genistein bekerja sebagai penghambat pertumbuhan lapisan endometrium yang berlebih pada jumlah tertentu. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kedelai (*Glycine max*) efektif untuk peningkatan proliferasi lapisan endometrium pada uterus mencit betina.

Kata kunci: estrogen, fitoestrogen, isoflavon, endometrium, kedelai

Abstract

The purpose of this research is to know the soybean effect to increase the proliferation of endometrial layer in development process of the uterine organ in female mice. The control group (K) without soybean extract. P1 group was given soybean extract with dose 12,5mg/kgBW. P2 group was given soybean extract at dose 25mg/kgBW. The P3 group was given soybean extract at a dose of 37,5mg/kgBW. P4 group was given soybean extract with dose of 50mg/kgBW. Treatment is done every day for fourteen days. One Way Anova Test results showed a significant ($p < 0.05$) and continued with Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The endometrial thickness of the P2, P3, and P4 groups was significantly different ($p < 0.05$), with control group (K), and control group (K) not significantly different from P1 ($p > 0.05$), and P1 did not significantly different with the P2 group ($p > 0.05$). Phytoestrogen compounds namely isoflavones in the form of daidzein and genistein cooperate in optimizing the proliferation of endometrial layer in the female mice. Daidzein acts as an estrogenic compound to bind estrogen receptors in the uterine and genistein acts as an inhibitor of the growth of excess endometrial lining in certain amounts. The conclusions of this study are soybean extract effective for increasing proliferation of endometrial layer on female mice's uterus.

Key words: estrogene, phytoestrogene, isoflavones, endometrium, soybean

PENDAHULUAN

Estrogen adalah salah satu hormon steroid yang berperan penting dalam sistem reproduksi hewan betina. Estrogen diperlukan untuk beberapa hal seperti fungsi homeostatik dari uterus, mempengaruhi pertumbuhan endometrium uterus, pertumbuhan jaringan pada epithelium vagina selama siklus estrus, mengontrol pelepasan hormone pituitary seperti *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH), serta mempengaruhi perkembangan kelenjar mammae atau kelenjar susu pada hewan mamalia (Suhandoyo dan Ciptono, 2009).

Aktifitas estrogenik juga dimiliki oleh fitoestrogen yang merupakan senyawa alami dari beberapa tumbuhan. Fitoestrogen mempunyai struktur yang mirip dengan estrogen endogen, sehingga dapat berikatan dengan reseptor endogen yang berakibat terjadi aktifitas estrogenik. Biben (2012) menjelaskan bahwa fitoestrogen mempunyai struktur kimia 2 penilnaptalen yang menyerupai rumus bangun hormon estrogen endogen, kemudian fitoestrogen juga memiliki gugus OH yang merupakan salah satu persyaratan untuk terjadinya aktifitas estrogenik. Fitoestrogen banyak terkandung pada tanaman yang berasal dari kelompok leguminocea atau fabace, seperti red clover, liquorice, bengkoang dan kedelai (Lukitaningsih, 2012).

Fitoestrogen mampu diserap oleh tubuh dan mengalami berbagai perubahan melalui cara disekresikan ataupun dipecah menjadi komponen-komponen lain dalam tubuh yang masih memiliki khasiat sama seperti estrogen endogen. Fitoestrogen memiliki struktur kimia yang serupa dengan 2 penilnaptalen yang rumus bangunnya sama dengan rumus bangun estrogen endogen. Terdapat gugus OH pada Fitoestrogen, estradiol, dan dietilstilbesrol, yang merupakan salah satu dari persyaratan untuk aktifitas estrogenik terjadi (Biben, 2012). Jenis dari fitoestrogen yang sering terdapat pada kedelai (*Glycine max*) antara lain: Isoflavon terdiri dari Genistein dan Daidzein (Suparman, 2006).

Kedelai merupakan salah satu tanaman yang mengandung fitoestrogen cukup banyak dibandingkan dengan tanaman lain. Agoes (2010) mengatakan bahwa di dalam minyak kedelai terkandung enam asam lemak dan isoflavon berupa genistein dan daidzein yang termasuk ke dalam jenis fitoestrogen. Menurut Pawiroharsono (2007), daidzein merupakan senyawa isoflavon yang memiliki aktifitas estrogenik atau dapat bekerja dengan reseptor estrogen, sedangkan genistein dapat menghambat pembelahan dan proliferasi sel baik itu sel normal, sel yang mengalami hyperplasia, sampai sel dengan tanda-tanda hipertopi seperti kanker. Mekanisme tersebut dapat terjadi apabila konsentrasi genistein lebih besar dari 5 μM (Peterson *et al*, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti pengaruh fitoestrogen yang terkandung dalam ekstrak kedelai (*Glycine max*) terhadap proliferasi lapisan endometrium pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) dengan dosis yang beragam dalam upaya mendapatkan dosis penggunaan yang optimal.

METODE PENELITIAN

Ijin Etik Hewan Coba

Penelitian ini diawali dengan uji etik penelitian dan dinyatakan layak etik oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan nomor sertifikat layak etik 784-KE.

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu 20 ekor mencit betina (*Mus musculus*) yang berumur tiga minggu dengan berat badan 20 gram. Mencit dipelihara dalam kandang individu yang terbuat dari plastik. Kandang diberi serbuk kayu untuk menjaga suhu tetap optimal. Ekstrak kedelai (*Glycine max*) digunakan sebagai perlakuan yang akan diberikan setiap hari selama 2 minggu secara per oral.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu pot pakan dan minum, sonde lambung untuk pemberian perlakuan, spuit tuberculin (OneMed Health Care), glove untuk menjaga

tangan tetap steril, peralatan bedah minor untuk pengambilan organ uterus, serta mikroskop trinokuler Olympus.

Perlakuan

Mencit dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu K (Kontrol) adalah kelompok mencit yang tidak diberi perlakuan, P1 merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan dengan dosis ekstrak kedelai 12,5mg/kgBB, P2 merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan dengan dosis ekstrak kedelai 25mg/kgBB, P3 merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan dengan dosis ekstrak kedelai 37,5mg/kgBB, dan P4 merupakan kelompok mencit yang diberi perlakuan dengan dosis ekstrak kedelai 50mg/kgBB. Tiap perlakuan terdiri dari empat ekor mencit. Perlakuan dilakukan sebanyak sekali sehari selama 14 hari.

Metode Skoring

Pengamatan dan pengukuran ketebalan lapisan endometrium pada gambar preparat histopatologis uterus dilakukan menggunakan software NIS-Elements D 4.40.00 64bit, hasilnya berupa ukuran ketebalan lapisan endometrium dalam satuan µm.

Analisis Data

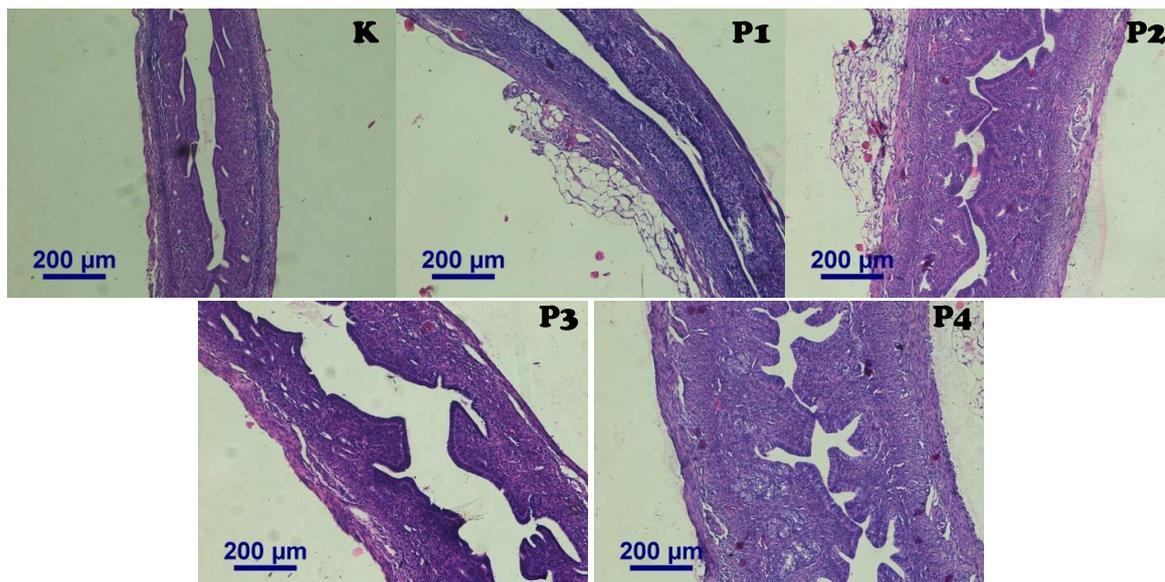
Data dianalisis menggunakan SPSS Versi 22 meliputi uji One Way Anova kemudian uji lanjutan menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil gambaran histopatologi endometrium menunjukkan bahwa pada setiap kelompok perlakuan mengalami peningkatan ketebalan endometrium berdasarkan jumlah dosis yang diberikan, seperti terlihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Rataan ketebalan endometrium pada tiap kelompok perlakuan

Perlakuan	Rataan±SD (µm)
K	103,68 ^a ±10,82
P1	137,18 ^{ab} ±16,51
P2	163,50 ^b ±8,361
P3	200,46 ^c ±20,23
P4	274,91 ^d ±43,86



Gambar 1. Gambaran histopatologi kepadatan kolagen kelompok kontrol dan perlakuan

Gambaran histopatologi tersebut kemudian diukur menggunakan aplikasi NIS-Elements BR 4.10.00. Hasilnya berupa ketebalan lapisan endometrium setiap kelompok seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium pada setiap perlakuan. Ketebalan endometrium kelompok kontrol (K) memiliki rata-rata 103,68 μm dengan standar deviasi 10,82. Rata-rata ketebalan endometrium kelompok P1 sebesar 137,18 μm dengan standar deviasi 16,51. Rata-rata ketebalan endometrium P2 sebesar 163,50 μm dengan standar deviasi 8,361. Rata-rata ketebalan endometrium P3 sebesar 200,46 μm dengan standar deviasi 20,23. Rata-rata ketebalan endometrium P4 sebesar 274,91 μm dengan standar deviasi 43,86. Berdasarkan hasil analisis tersebut, kelompok yang diberi perlakuan ekstrak kedelai memiliki rata-rata ketebalan endometrium yang berbeda jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Output dari uji One Way Anova untuk ketebalan endometrium pada mencit betina menghasilkan angka 0,000 yang menunjukkan terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$). Perbedaan setiap kelompok selanjutnya diuji dengan uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Berdasarkan uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT), kelompok kontrol (K) memiliki perbedaan ketebalan endometrium yang signifikan terhadap kelompok P2, P3 dan P4 ($p < 0,05$), serta tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok P1 ($p > 0,05$).

Siklus estrus pada mencit terdiri dari beberapa fase atau 4 fase utama, diantaranya fase diestrus, proestrus, estrus, dan metestrus. Siklus estrus mencit berlangsung selama 4-5 hari (Rintafiani, 2014). Siklus estrus mencit diawali dengan fase diestrus, pada tahap ini terbentuk folikel-folikel primer yang belum tumbuh dan beberapa yang mengalami pertumbuhan awal. Fase berikutnya adalah proestrus, Folikel de graaf akan tumbuh dibawah pengaruh hormon *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Hal tersebut mengakibatkan sekresi estrogen dalam darah meningkat sehingga akan mengakibatkan perubahan fisiologis meliputi pertumbuhan folikel, peningkatan dan pertumbuhan

endometrium, uterus, serviks, serta vaskularisasi, dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Selanjutnya terjadi fase estrus, fase ini folikel de graaf membesar dan menjadi matang. Tuba falopii akan menegang, epitel akan matang, dan silia aktif serta terjadi kontraksi tuba falopii dan ujung tuba yang berfimbria merapat ke folikel de graaf. Fase terakhir adalah metestrus, fase ini merupakan fase lanjutan ketika sistem reproduksi di bawah pengaruh hormon yang diproduksi oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) sehingga menghambat pembentukan folikel de graaf dan mencegah terjadinya estrus (Akbar, 2010; Pramesti dkk., 2018).

Fitoestrogen merupakan zat yang terdapat pada tumbuhan dan biji-bijian dengan struktur mirip estrogen, memiliki efek estrogenik dan dapat bekerja pada reseptor estrogen dikarenakan memiliki aktifitas biologik dan struktur yang menyerupai estrogen endogen (Suparman, 2006). Fitoestrogen memiliki struktur kimia yang serupa dengan 2 penilnaptalen yang rumus bangunnya sama dengan rumus bangun estrogen endogen. Terdapat gugus OH pada Fitoestrogen, estradiol, dan dietilstilbesrol yang merupakan salah satu dari persyaratan untuk aktifitas estrogenik terjadi (Biben, 2012).

Proliferasi endometrium merupakan proses yang kompleks dan dinamis dari berbagai macam pengaruh hormon-hormon hipotalamus-hipofisis-gonad. Aktifitas hipotalamus dipicu oleh rangsangan lingkungan luar dan kadar hormon estrogen di dalam sirkulasi darah. Estrogen beraksi terhadap uterus untuk meningkatkan massa endometrium dan miometrium dalam bentuk hiperplasia dan hipertropia. Terdapat rangsangan dari hormon yang disekresikan oleh hipotalamus dalam proses produksi hormon-hormon tersebut, antara lain FSH-RH dan LH-RH, *Follicle Stimulating Hormone-Releasing Hormone* (FSH-RH) bertugas untuk merangsang agar FSH untuk disekresikan. FSH berfungsi untuk merangsang pembentukan folikel sampai folikel tersebut masak tetapi tidak menyebabkan sel telur untuk ovulasi. Folikel tersebut tumbuh dan menghasilkan cairan folikel

yang mengandung estrogen dalam jumlah banyak. Hormon estrogen inilah yang mempengaruhi suplai darah ke saluran alat kelamin dan meningkatkan pertumbuhannya. Estrogen disekresikan oleh sel-sel granulosa folikel ovarium dengan 18 atom karbon mempunyai aktifitas estrogenik. Bentuk dari hormon estrogen yang terdapat tubuh hewan betina berupa estradiol (C₁₈H₂₆O₂), estron (C₁₈H₂₅O₂) dan estriol (C₁₈H₂₇O₃). Hormon estrogen yang lazim dijumpai dalam jumlah yang cukup tinggi dan sesuai dalam tubuh adalah estradiol (Ismudiono dkk., 2010; Purnama dkk., 2017).

Isoflavon dalam tanaman bersifat inaktif, yang berada dalam bentuk glikoside. Unsur tanaman ini diduga mengalami fermentasi oleh mikroflora usus. Kemudian dengan proses metabolisme, terjadi konversi dari biochanin A dan formonetin oleh glucosidase menjadi unsur genisten dan daidzein yang aktif. Dalam usus melalui sistem enzim yang kompleks dari proses metabolisme, unsur daidzein menjadi equol dan O desmethylangiolensin (O-DMA) dan terutama genistein menjadi heterocyclicphenolic yang strukturnya mempunyai persamaan dengan hormon estrogen.

Absorpsi fitoestrogen kemudian mencapai sirkulasi hepatic dan dieksresikan ke dalam kandung empedu, untuk mengalami dekonjugasi oleh flora usus lalu reabsorpsi, rekonjugasi oleh hati dan dikeluarkan melalui air kemih.

Umumnya perubahan struktur terjadi dalam usus dan hati. Perbedaan struktur dari kedua lignan tadi terdapat pada unsur hidroksil fenol pada kedudukan meta dalam cincin aromatik. Dalam usus besar melalui proses reabsorpsi kemudian konjugasi dalam asam glukuronik atau sulfat lalu reeksresi melalui saluran empedu untuk mengalami dekonjugasi oleh bakteri dan kemudian reabsorpsi kembali. Beberapa diantaranya mencapai ginjal dan dieksresikan. Lignan dieksresikan melalui empedu dan air kemih dalam bentuk glukuronid konjugasi dan dalam tinja dalam bentuk antikonjugasi.

Diantara golongan fitokimia yang paling luas adalah golongan non steroid estrogen yang dikenal sebagai fitoestrogen dan yang paling

banyak menarik perhatian adalah peran isoflavon yang relatif kadarnya tinggi pada protein kedelai. Isoflavon ini mengalami biotransformasi oleh mikroflora pada saluran cerna kemudian diabsorpsi dan mengalami perubahan pada sistem enterohepatik serta mencapai sirkulasi dalam kaitannya dengan estrogen endogen. Fitoestrogen dan metaboliknya memiliki kekuatan hormonal dan non hormonal ditinjau dari segi biologi efek yang kaya dengan fitoestrogen (Biben, 2012).

Pengaruh ekstrak kedelai mengandung senyawa isoflavon yang terdiri dari daidzein dan genistein. Menurut Pawiroharsono (2007), daidzein merupakan senyawa isoflavon yang memiliki aktifitas estrogenik atau dapat bekerja dengan reseptor estrogen, dalam hal ini adalah perkembangan lapisan endometrium pada uterus, sedangkan genistein dapat menghambat pembelahan dan proliferasi sel baik itu sel normal, sel yang mengalami hiperplasia, sampai sel dengan tanda-tanda hipertopi seperti kanker (Purnama dan Samik, 2014). Mekanisme tersebut dapat terjadi apabila konsentrasi genistein lebih besar dari 5 µm (Peterson *et al*, 1997).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak kedelai (*Glycine max*) dapat meningkatkan proliferasi lapisan endometrium mencit (*Mus musculus*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada staf laboratorium patologi FKH Unair, ayahanda dan ibunda, serta rekan mahasiswa yang telah membantu sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, A. 2010. Tanaman Obat Indonesia. Salemba Medika. Palembang. 2, 95.

- Akbar, B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Adabia Press.
- Biben. 2012. Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi Dan Keamanan Penggunaannya. Prosiding, Seminar Ilmiah Nasional. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Ismudiono., Srianto, P., Anwar, H., Madyawati, P.S., dan Safitri, E. 2010. Buku Ajar Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya. p8-75.
- Lukitaningsih, E. 2012. Fitoestrogen : Senyawa Alami yang Aman sebagai Pengganti Hormon Estrogen pada Wanita. Media Informasi Penelitian Herbal Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Pawiroharsono, S. 1998. Benarkah tempe sebagai anti kanker. Jurnal Kedokteran dan Framasi MEDIKA, No.12 Tahun ke-XXIV, Desember 1998. pp.815-817.
- Peterson, T. G., Kim H. dan Bames S. 1997. Mechanism of action of thesoyisoflavone genestein at the cellular level. Second International Symposium on the Role of Soybean in Preventing and Treating Chronic Diseases. September 15-18, 1996, Brussel, Belgique.
- Pramesti, N. A., Restiadi, T. I., Yudhana, A., Hernawati, T., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Jumlah Pertumbuhan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 120-127.
- Purnama, M. T. E., Samik, A. 2014. Potensi Mycotoxin Binders Terhadap Gambaran Histopatologi Neoplasia Kelenjar Mammae Mencit (*Mus musculus*) Bunting yang Terpapar Zearalenon. *Veterinaria*, 7(1).
- Purnama, M. T. E., Mustofa, I., Suprayogi, T. W., Samik, A., Prastiya, R. A., Saputro, A. L. 2017. Aluminosilikat Berpotensi Menekan Gangguan Reproduksi Mikotoksin Zearalenon Berdasarkan Pengamatan Jumlah Folikel dan Ekspresi Caspase-9 Ovarium. *Jurnal Veteriner*, 18(2), 175-180.
- Rozman, K. K., Bhatia, J., Calafat, A. M., Chambers, C., Culty, M., Etzel, R. A., Flaws, J. A., Hansen, D. K., Hoyer, P. B., Jeffery, E. H., Kesner, J. S., Marty, S., Thomas, J. A., and Umbach, D. 2006. NTP-CERHR Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Soy Formula. Department of Pharmacology and Toxicology University of Kansas Medical Center. Kansas. KS.
- Suhandoyo, dan Ciptono. 2009. Materi E-Learning Reproduksi dan Embriologi Hewan. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY. Yogyakarta.
- Suparman, E. 2006. Fitoestrogen/HRT: Pro Dan Kontra. Jurnal Ilmiah. Manado: Universitas Sam Ratulagi.
